TSQ Quantum液质联用仪操作说明

本操作说明适用于Thermo Fisher Scientific TSQ Quantum液质联用仪，介绍了包括Surveyor AS自动进样器, Surveyor LC Pump, Surveyor MS Pump, Accela Pump溶剂输送泵, TSQ Quantum系列三重四极杆质谱仪及其工作站的使用方法。主要包括以下内容：

任务	页码
Step 1. 使用LC-MS/MS前的准备工作	第1页
Step 2. 开机、关机方法	第1页
Step 3. LC-ESI/MS/MS分析方法建立	第2页
Step 3.1 化合物ESI/MS/MS质谱条件优化建立	第2页
Step 3.2 化合物LC/MS/MS方法建立	第2页
Step 4. 样品序列建立及样品分析	第3页
Step 5. 定量数据处理	第3页
Step 5.1 定量数据处理方法建立	第3页
Step 5.2 定量数据处理及定量结果浏览	第4页
Step 6. 样品报告生成	第5页
Step 7. 分析结束	第6页
注意事项	第6页
日常维护	第6页

Step 1. 使用LC-MS/MS前的准备工作

1. 查阅文献，获得目标分析物质或相近物质的液质条件。
2. 阅读Thermo Accela UPLC操作说明，熟悉UPLC的操作方法及注意事项。
3. 检查线路是否连接完好。检查流动相是否充足，不足则根据要求添加。
4. 有机流动相必须为进口HPLC级，水相可使用Millipore纯水机出水或娃哈哈屈臣氏纯净水。流动相中添加的酸或胺类物质必须为色谱纯，其中水相需每天更换以保持新鲜。
5. 标样和样品在使用前必须用0.2μm的针头式滤器（进口非分装）过滤。
6. 在做LC/MS/MS之前，需将样品放置在样品托盘上，并记录相应的位置。且第一个和最后一个样品为空白采用不含盐或酸的流动相做样，用于清洗进样系统及管路。

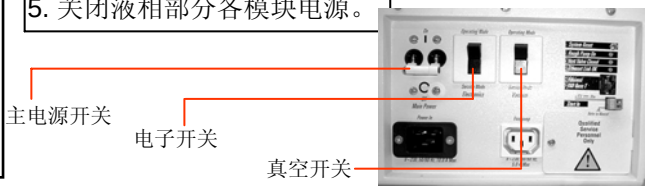
Step 2. 开机、关机方法

Step2.1 开机方法

1. 打开质谱电源，即打开质谱主电源开关（Main Power Switch）至On（/）位置；
2. 打开真空开关（Vacuum Switch）在Operational状态；真空开关开启约一小时后，打开电子开关Electronics Service Switch）在Operational状态；
3. 用密封垫或者放电针堵上离子传输毛细管；
4. 打开数据处理系统，即打开计算机和打印机；
5. 双击桌面 图标，打开Quantum Tune Master界面；
6. 单击Quantum Tune Master界面上 图标，查看质谱状态，确认Ion Gauge Pressure小于5×10^{-6} Torr。
7. 打开液相部分各模块电源。

Step2.2 关机方法

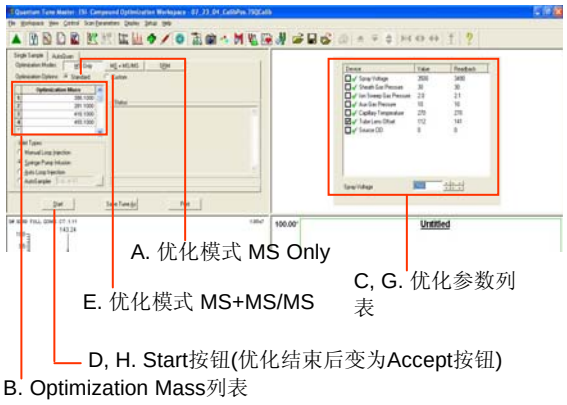
1. 双击桌面 图标，打开 Quantum Tune Master界面，将质谱设置为待机 Standby状态;
2. 关闭电子服务开关 (Electronics Service Switch);
3. 关闭真空开关 (Vacuum Switch);
4. 3分钟后关闭质谱主电源开关 (Main Power Switch) 至Off (O) 位置；
5. 关闭液相部分各模块电源。

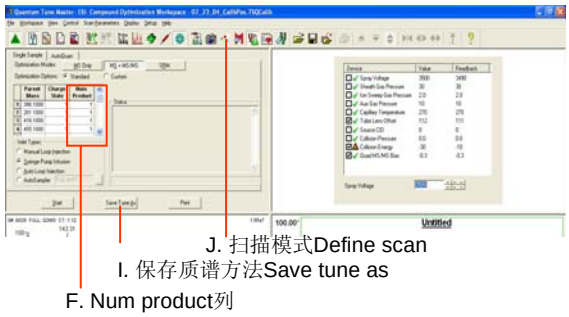


Step 3. LC-ESI/MS/MS分析方法建立

Step 3.1 化合物ESI/MS/MS质谱条件优化建立

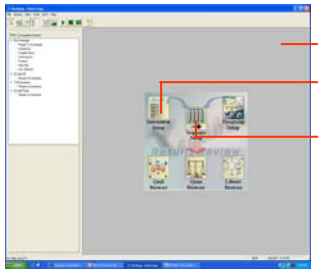
1. 双击桌面 图标，打开 Quantum Tune Master 界面；
2. 在 Tune Master 中界面上，选择菜单 Workspace, 选择 Compound Optimization Workspace 按钮，显示 Compound Optimization 工作界面;
3. 使用标示了“Sample”字样的进样针及管线，按照优化要求连接管线，并选择合适的标样浓度。
4. 设置优化参数:
   A. 选择 Optimization Modes (优化模式): MS Only按钮;
   B. 在 Optimization Mass 列表中，输入母离子质量数;
   C. 在优化参数列表中，选择 (✓) 优化的参数 (Spray Voltage, Sheath gas pressure, Aux gas pressure, Tube lens offset, Skimmer offset);
   D. 单击 Start 按钮，开始优化; 优化结束后, 选择Accept按钮;
   E. 选择 Optimization Modes (优化模式):MS+MS/MS按钮;
   F. 在 Optimization Mass 列表 Num product 列中，输入子离子个数 (1~8);
   G. 在优化参数列表中, 选择 (✓) 优化的参数 (Collision energy);
   H. 单击 Start 按钮, 开始优化; 优化结束后, 选择Accept按钮;
   I. 参数优化完成, 保存质谱方法: 选择 Save tune as 按钮, 选择保存位置, 输入文件名称, 保存质谱方法(.TSQTune文件);
   J. 单击定义扫描模式 Define scan 快捷图标, 在扫描模式区单击鼠标右键, 选择Copy scan event.

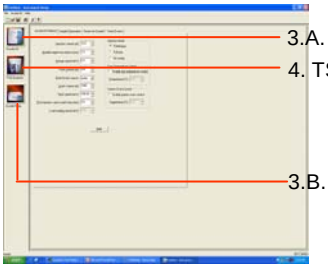


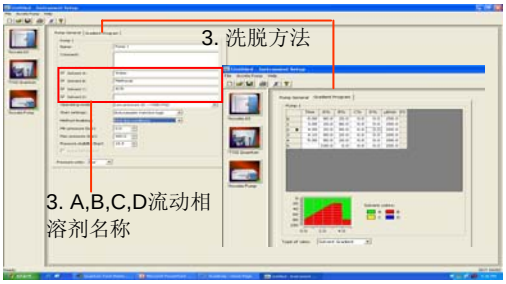


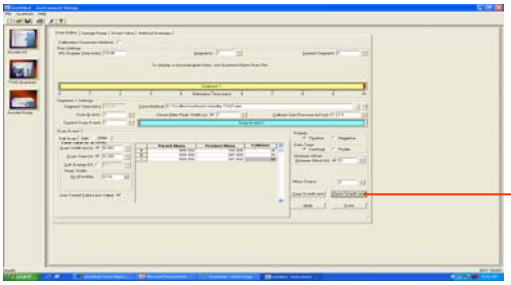
Step 3.2 化合物LC/MS/MS方法建立

1. 双击桌面上 Xcalibur 快捷图标, 打开 Xcalibur 工作站;
2. 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击 Instrument Setup按钮, 建立LC/MS/MS方法;
3. 设置液相色谱部分参数:
   A. Surveyor 液相泵的参数设置:
      1) 点击Instrument Setup窗口中Surveyor (Accela) pump图标;
      2) 输入A,B,C,D流动相名称，Column Description(色谱柱标注);
      3) 设置流动相条件(流动相比例, 流速等).
   B. Surveyor自动进样器参数设置:
      1) 点击Instrument Setup窗口中的 Surveyor (Accela) AS图标;
      2) 输入Wash Volume (如400 μl), Flush Volume (如400 μl);
4. 设置质谱部分(TSQ Quantum)参数:
      1) 点击Instrument Setup窗口中的TSQ Quantum图标;
      2) 单击Paste scan event按钮.
5. LC/MS/MS方法保存: 单击File菜单, 选择Save As, 选择保存路径并输入文件名称, 保存方法(. Meth文件).



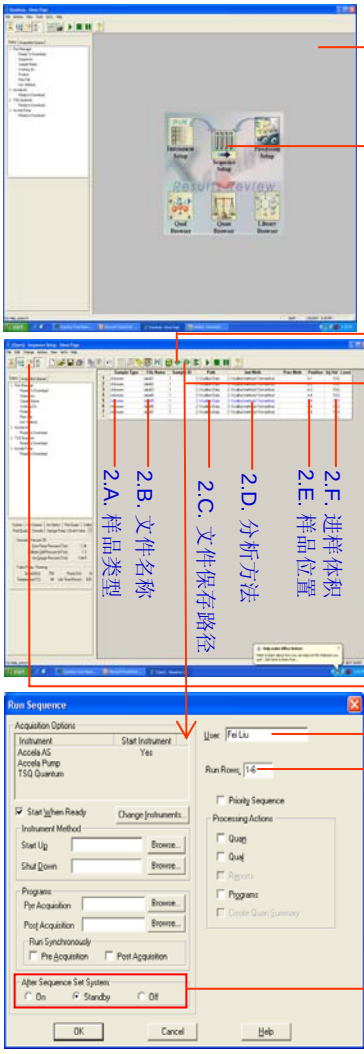






Step 4. 样品序列建立及样品分析

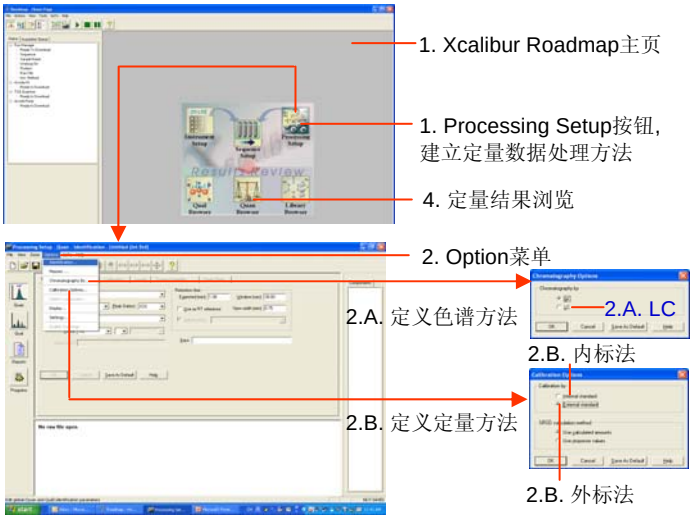
1. 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击Sequence Setup按钮, 建立样品序列;
2. 序列建立:
   A. 选择样品类型 Sample Type: Unknown, QC, Blank, Std Bracket.
   B. 输入文件名称 File Name: 可以手动输入, 也可点击鼠标右键浏览, 选择已经存在的文件的文件名;
   C. 设定文件保存路径 Path: 双击鼠标左键(或者点击鼠标右键, 选择<Browser>,设定文件保存路径;
   D. 选择分析方法 Inst Meth: 双击鼠标左键(或者点击鼠标右键, 选择<Browser>, 打开Step1.2中所建立的分析方法;
   E. 设定样品瓶在进样器中的位置 Position: A:1-A:40, B:1-B:40, C:1-C:40, D:1-D:40. E:1-E:40;
   F. 输入进样体积;
   G. 保存序列: 单击File菜单, 选择 Save As, 选择保存路径并输入序列文件名称, 保存序列(. Sld文件)。
3. 样品分析:
   A. 运行单个样品: 在Sequence序列表中鼠标点击选择需要运行的样品，单击按钮 , 在出现的界面中输入操作人员姓名User, 设定样品运行结束后仪器状态After Sequence Set System (On, 仪器仍在扫描状态, Standby,仪器处在待机状态, Off, 仪器关机), 单击OK, 开始进样分析;
   B. 运行多个样品: 单击按钮 , 在出现的界面中, 输入操作人员姓名User, 在Run Rows空格中输入要运行的样品范围 (在序列表中的行标, 如1－6),设定样品运行结束后仪器状态 After Sequence Set System (On, 仪器仍在扫描状态, Standby,仪器处在待机状态, Off, 仪器关机), 单击OK, 开始进样分析.
4. 样品运行时可将界面切换到实时监测界面: 点击 按钮进行界面切换.



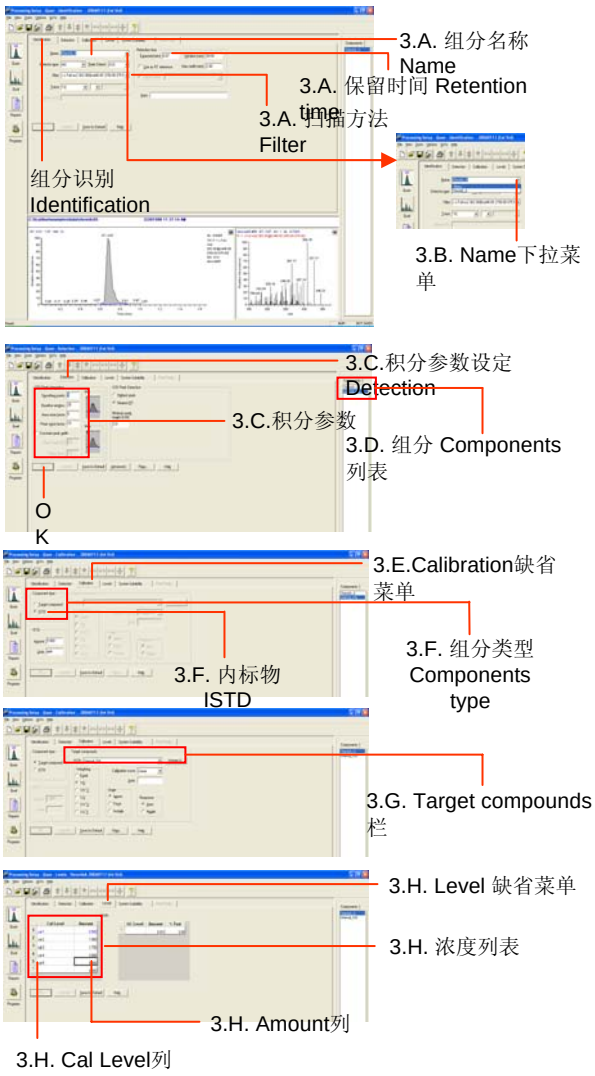
Step 5. 定量数据处理

Step 5.1 定量数据处理方法建立

1. 在 Xcalibur Roadmap 主页上, 点击 Processing Setup 按钮, 建立定量数据处理方法;
2. 设置定量方法:
   A. 定义色谱方法: 单击Option菜单, 单击Chromatography by, 选择液相色谱方法LC, 点击OK;
   B.定义定量方法 (内标法,外标法): 单击Option菜单, 单击Calibration by, 选择定量方法 (内标法, Internal Standard, 外标法 External Standard), 点击OK;
   C. 打开一演示数据文件: 单击File菜单,选择Open Raw File, 打开一原始数据文件 (在要作定量处理的数据中选择一个,最好是打开一个标样的数据文件);



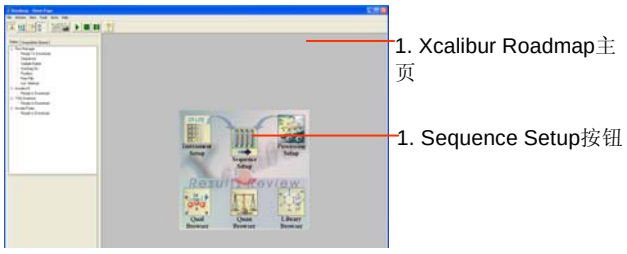
3. 设置定量方法 (内标法)参数:
   A. 定量组分的识别Identification参数: 设定定量组分的名称 Name (下拉菜单中选择New, 直接输入该组分名称), 扫描方法 Filter (下拉菜单中选择该组分对应的扫描方法), 点击OK, 输入保留时间 Retention time, 点击OK (如果是多组分定量, 点击Name栏内下拉菜单, 选择NEW, 输入第二个组分名称, 其他参数设定相同).
   B. 内标物的识别Identification参数: 在 Name 下拉菜单中选择New, 直接输入内标物名称, 扫描方法 Filter (下拉菜单中选择内标物对应的扫描方法), 点击OK, 输入内标物保留时间 Retention time, 点击OK;
   C. 内标物积分参数设定 Detection: 单击Detection缺省菜单, 输入内标物各积分参数, 点击OK;
   D. 定量组分积分参数设定 Detection: 点击界面右上角组分 (Components) 列表栏内定量组分的名称, 输入该组分各积分参数, 点击OK;
   E. 校正曲线 Calibration 参数设定: 单击 Calibration 缺省菜单;
   F. 点击界面右上角组分 (Components) 列表栏内内标物的名称, 定义其为内标物: 在组分类型 Component type 栏内选择ISTD, 点击OK;
   G. 点击界面右上角组分 (Components) 列表栏内定量组分的名称, 在 Target compounds 栏内, ISTD的下拉菜单中选中内标物, 点击OK;
   H. 标准溶液浓度 Levels 设定: 单击 Level 缺省菜单,在左侧浓度列表内, Cal Level列内从上到下依次输入每个浓度的代号(如1, 2, 3 ···, 或cal-1, cal-2, cal-3 ···,或者A, B, C ···等等), Amount 列内从上到下依次输入各标准溶液浓度值, 单击OK, 定量方法(内标法)建立完成.
   I. 保存方法: 单击 File 菜单, 选择 Save As, 选择保存路径并输入文件名称, 保存方法(.pmd文件).
4.设置定量方法 (外标法)参数:
   A. 定量组分的识别 Identification 参数: 设定定量组分的名称 Name (下拉菜单中选择New, 直接输入该组分名称), 扫描方法 Filter (下拉菜单中选择该组分对应的扫描方法), 点击OK, 输入保留时间 Retention time, 点击OK; (如果是多组分定量, 点击 Name 栏内下拉菜单,选择 NEW, 输入第二个组分名称, 其他参数设定相同).
   B. 定量组分积分参数设定 Detection: 点击界面右上角组分 (Components) 列表栏内定量组分的名称, 输入该组分各积分参数, 点击OK;
   C. 校正曲线Calibration参数设定: 单击 Calibration 缺省菜单, 设定各参数.



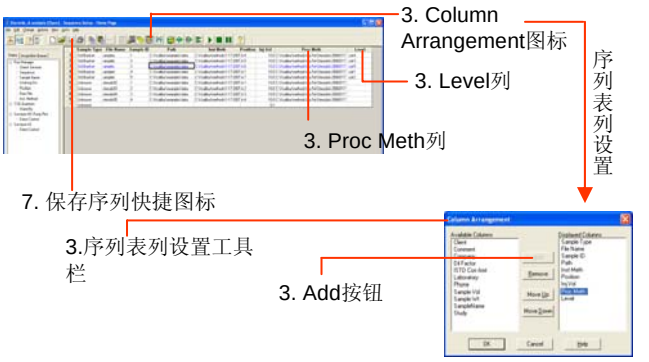
   D. 标准溶液浓度 Levels 设定: 单击 Level 缺省菜单,在左侧浓度列表内, Cal Level 列内从上到下依次输入每个浓度的代号 (如1, 2, 3 ···, 或 cal-1, cal-2, cal-3 ···,或者A, B, C ···等等), Amount 列内从上到下依次输入各标准溶液浓度值, 单击OK, 定量方法 (外标法) 建立完成.
   E. 保存方法: 单击 File 菜单, 选择Save As, 选择保存路径并输入文件名称, 保存方法 (.pmd文件).

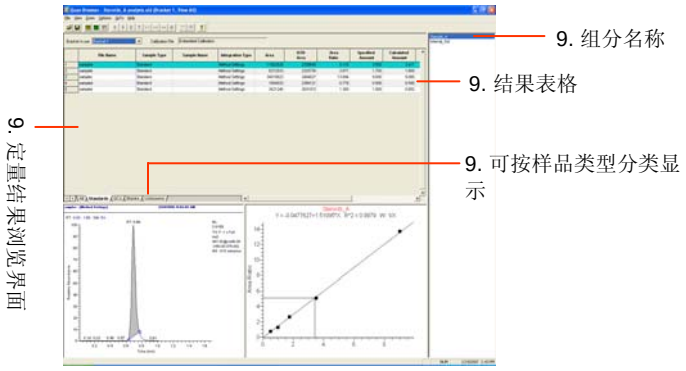
Step 5.2 定量数据处理及定量结果浏览

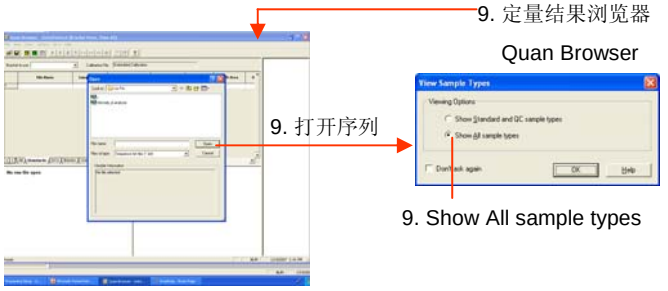
1. 在 Xcalibur Roadmap 主页上，点击 Sequence Setup 按钮;
2. 打开序列: 打开在Step 2所保存的序列 (单击File菜单, 选择Open打开序列;
3. 检查序列表中是否有 Proc Meth 和 Level 两列.如没有,点击 Column Arrangement 快捷图标, 出现序列表列设置工具栏, 在左侧可选项下选中Proc Meth, 点击Add, 选中Level, 点击Add, 然后单击OK.
4. 设定样品类型: 将标准样品的样品类型 (Sample type) 设定为Std Bracket, 待测未知样品设定为Unknown, 空白样品设定为Blank;



5. 选择数据处理方法 Proc Meth: 在Proc Meth列中双击鼠标左键 (或者点击鼠标右键, 选择<Browser>, 打开 Step3.1 中所建立的数据处理方法;
6. 设定标准样品浓度水平: 点击各样品类型为 Std Bracket 的标准样品对应的 Level 列单元格, 出现一下拉菜单, 选择该标准样品对应的 Cal Level 名称;
7. 保存该序列: 点击保存序列快捷图标 ;
8. 数据批处理: 点击批处理 Batch Reprocess 快捷图标 ; 出现数据处理选项工具, 选择 (✓) Quan 及其项下Peak Integration, Quantitation, 点击OK;
9. 定量结果浏览: 在 Xcalibur Roadmap主页上, 点击定量结果浏览器 Quan Browser 按钮. 在出现的对话框中打开保存的序列 (第7项), 在出现的 View Sample Types 对话框中选择 Show All sample types, 点击 OK, 显示定量结果;
10. 保存定量结果:单击 File 菜单, 选择 Save As, 选择保存路径并输入定量结果文件名称, 保存定量结果(. rst 文件).

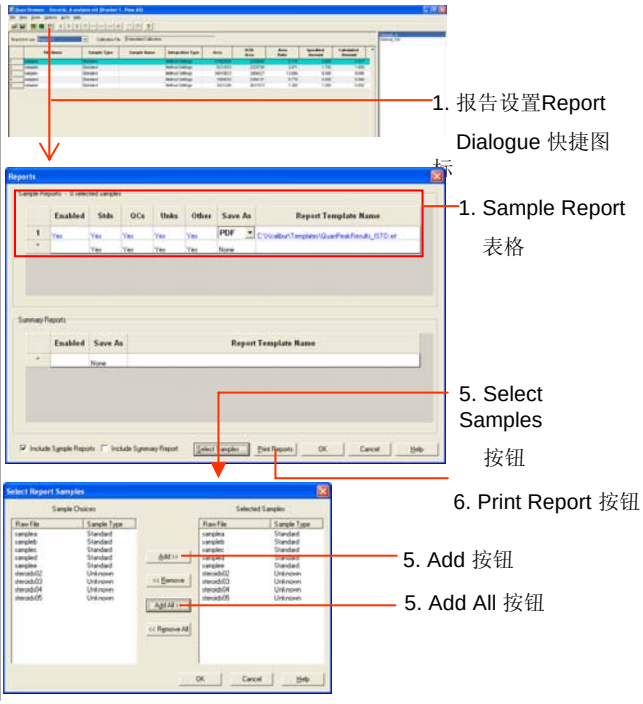






Step 6. 样品报告生成

1. 在定量结果浏览界面上,点击报告设置 Report Dialogue 快捷图标 , 出现报告设置对话框;
2. 在样品报告 Sample Reports 项下表格中, 点击 Enable 下单元格, 点击鼠标左键, 出现✓;
3. 点击 Save As 下单元格, 点击鼠标左键, 出现下拉菜单, 选择需要生成报告的文件类型 (PDF, Doc, Text, Htlm…);
4. 双击报告模板 Report Template Name 下单元格, 选择并打开需要的报告模板 (Xcalibur软件提供的模板位置: C:\ Xcalibur \ Template);
5. 点击 Select Samples 按钮, 选择要生成报告的数据文件: 选中数据文件名称, 点击 Add 按钮 (或直接点击 Add All 按钮, 全部选择), 单击 OK;
6. 单击 Print Report 按钮, 生成报告;
7. 打开报告(报告保存位置与原始数据保存位置相同).



Step 7. 分析结束

1. 化合物ESI/MS/MS质谱条件优化请使用标示了“Sample”字样的进样针及管线，优化结束，取下连接管路及注射针，用甲醇清洗至少3次后放回原位；并将六通阀出口处的进样管线恢复原样（和进样的石英毛细管以两通连接在接地杆上）。
2. 分析结束后，将喷雾电压设为0，流动相接入条件下scan15~20min；然后将流动相切换为waste状态，继续scan15~20min，停止Scan。
3. 清洗液相色谱柱。关闭软件及电脑，关闭UPLC仪器面板Accela AS、Accela Pump的电源开关。其余电源开关请勿动。并及时登记“仪器使用记录”包括异常情况的详细信息。
4. 卸下自己使用的分析柱后请用指定两通连接管路，避免流动相管路暴露于空气之中。

注 意 事 项

1. 开UPLC主机时，只需打开仪器面板Accela AS、Accela Pump的电源开关。如分析过程需要使用PDA，请事先说明。
2. 更换气体时，请先用钢瓶内的气体吹扫钢瓶口，再将钢瓶接入管路。
3. 每次开液相都先purge流动相管路及自动进样机械手以防止起泡进入系统。
4. 所有需戴手套进行的操作（包括样品预处理及流动相过滤等），必须使用无尘手套（其它手套中的粉末会堵塞管路及色谱柱，造成严重损失）。拭擦仪器管路及其它部件时必须使用无尘纸。
5. 样品瓶盖为一次使用，以免密封垫片的碎屑堵塞进样针及UPLC系统。
6. 质谱加热传输毛细管温度未升到设定值时，流动相绝对不能进入质谱。
7. 注意废液瓶中废液的液位，废液倒至指定废液桶。为保持室内空气清洁，其它废液请带离质谱房间，并每天倾倒垃圾。
8. 注意保持室内清洁，不要接触任何和LC/MS无关的电源开关，未经许可不要使用另一台UPLC及其控制电脑，请勿关闭空调。离开实验室请锁门。
9. 其它故障说明：
   A）如UPS出现警报声，表明市电中断，请立即保存数据，清洗离子源，关闭电脑和仪器电源。
   B）出现任何紧急状况，请与负责老师联系。
10. 有关Accela UPLC的操作说明及注意事项请仔细阅读“Thermo Accela UPLC 工作原理及使用说明”。
11. 关于LCMS化合物的优化方法细则请阅读“LCMS化合物优化方法”。
12. 关于定量分析的数据处理方法请阅读“Xcalibur 定量过程 for UPLC & LCMS.pdf”。

日 常 维 护

维护项目	频率
真空泵震气	每周（由每周第一位使用液相的同学操作）
离子传输毛细管清洗	需要时
质谱防尘海绵清洗	每月
真空泵检查油位	需要时、每月
真空泵更换泵油	工作半年~1年左右